IMPACTO DA PRÉ-OXIDAÇÃO COM HIPOCLORITO DE SÓDIO NA INTEGRIDADE CELULAR DE CIANOBACTÉRIAS E NA REMOÇÃO DAS CIANOTOXINAS

Ana Elisa Ferreira de Oliveira Fonseca[1]
Doutora e Mestre em Ciências, com ênfase em Física e Química de Materiais (FQMat), pela Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ). Licenciatura e Bacharelado em Química pela UFSJ. Pós-graduação em Engenharia Ambiental e Saneamento Básico. Pós-doutorado em Química Analítica pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Vencedora do Prêmio Capes de Tese (2023) na área de Materiais. Atualmente, Analista de Saneamento (Químico I) na Companhia de Saneamento Municipal de Juiz de Fora (CESAMA).
Rafael Arromba de Sousa[2]
Bacharelado e Licenciatura em Química pela Universidade Estadual de Campinas. Fez Mestrado em Química, na área de Química Analítica e Doutorado em Ciências, na mesma universidade. Atualmente é professor Associado IV do Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora (DQ-UFJF).
Simone Jaqueline Cardoso[3]
Bacharel e licenciada em Ciências Biológicas e mestre em Ecologia pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), doutora em Ecologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, com período sanduíche na University of Virginia (EUA). Docente Adjunto no Departamento de Zoologia (UFJF) e docente permanente no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza (UFJF).
Nathália da Silva Resende[4]
Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Juiz de Fora, com período sanduíche na Radboud University (Nijmegen/Netherlands) e mestra em Biodiversidade e Conservação da Natureza pela Universidade Federal de Juiz de Fora. Atualmente faz doutorado no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza (PPG Biodiversidade-UFJF).

Endereço[1]**:** Rua Tupi, 260 - Santa Terezinha - Juiz de Fora - MG - CEP: 36045-380 - Brasil - Tel: +55 (32) 98808-1355 - e-mail: oliveira.anaelisaf@gmail.com.

RESUMO

Este estudo investigou os efeitos da oxidação com hipoclorito de sódio (1,5 mg/L) sobre células de cianobactérias e a remoção de cianotoxinas em ensaios em microcosmos, utilizando amostras concentradas e mistas contendo cepas conhecidas. As amostras foram expostas ao oxidante por períodos entre 0 e 30 minutos. Avaliou-se a viabilidade celular e as concentrações de microcistinas, saxitoxinas e cilindrospermopsinas. A pré-oxidação de água bruta levanta preocupações quanto à liberação de toxinas devido à lise celular, embora a oxidação também possa degradar cianotoxinas. Os resultados demonstraram que, nas condições testadas, o hipoclorito de sódio não comprometeu a integridade celular das cianobactérias, não havendo diferença estatística significativa na viabilidade celular entre os tempos de contato ($p > 0,05$). Por outro lado, observou-se redução significativa de saxitoxinas: de 36,8% a 58,5% na cultura mista (50% CYRF e 50% MIRF) e de 10,5% a 38,7% na cultura RSSP01. Esses dados indicam que o hipoclorito de sódio, na concentração avaliada, é eficiente na degradação de saxitoxinas, sem promover lise celular imediata. Portanto, o uso criterioso do oxidante pode representar uma estratégia viável para o controle de toxinas em águas contaminadas por cianobactérias.

PALAVRAS-CHAVE: tratamento de água; cianobactérias; cianotoxinas

INTRODUÇÃO

As cianobactérias, também conhecidas como algas azuis, são componentes do fitoplâncton, sendo o grupo mais problemático do ponto de vista sanitário. Cianobactérias possuem estrutura celular semelhante à das bactérias, e possuem um sistema fotossintetizante semelhante ao das algas. A presença de ficocianina, juntamente com outros componentes como clorofila-a, ficoeritrina e ficobilissoma confere a estes organismos a capacidade de realizar fotossíntese. Além disto, estes organismos são procariotas e por conta disto, também são agrupados com as bactérias. Estão presentes em diversos habitats, dentre eles os sistemas de água doce (CEMIG, 2011; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; MÜLLER, PAGIORO, *et al.*, 2018).

Quando há condições ideais de crescimento, como aumento na disponibilidade de nutrientes (como fósforo e nitrogênio) e da temperatura, estes organismos formam as chamadas florações. Estas florações podem ser tóxicas, aumentando a preocupação quanto aos efeitos em outros seres vivos. Visto que o processo de eutrofização das água resulta no excesso de nutrientes nos corpos d'água, em especial nitrogênio e fósforo, esse processo estimula a formação das florações de cianobactérias em mananciais superficiais. A presença de grandes quantidades de cianobactérias é marcada pela formação de florações de cor verde-azulada na água (GRADÍSSIMO, MOURÃO e SANTOS, 2020).

As cianobactérias causam inúmeros problemas nas Estações de Tratamento de Água, dentre entupimentos dos filtros, aumento dos custos de tratamento, diminuição na eficiência e formação de subprodutos. Porém, um dos problemas mais graves está relacionado à capacidade das cianobactérias de produzir toxinas, as chamadas cianotoxinas. As cianotoxinas altamente prejudiciais à saúde humana e animal, podendo causar graves intoxicações. A liberação dessas toxinas em uma proliferação de algas na água pode ocorrer durante a morte celular e lise (ou seja, ruptura celular), em oposição à excreção contínua das células cianobacterianas. No entanto, algumas espécies de cianobactérias são capazes de liberar toxinas sem nem mesmo ocorrer a ruptura ou morte celular (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; MÜLLER, PAGIORO, *et al.*, 2018).

Vários gêneros e espécies de cianobactérias produzem cianotoxinas. Contudo, as causas da liberação dessas toxinas ainda não são devidamente conhecidas. A liberação pode ocorrer em função da lise celular, seja por morte, decaimento natural ou ação de oxidantes. Quando ocorre a lise, isto é, a ruptura da célula, a toxina intracelular pode ser liberada para a água (no caso de cianobactérias produtoras de toxinas). O estresse também pode causar a produção, como alteração de temperatura, agitação, luminosidade, pH, aditivos químicos e diversos outros (FUNASA, 2003; REIS e NETO, 2022). Além disso, a etapa de pré-oxidação pode estressar as cianobactérias, causando a lise das células e posterior liberação das cianotoxinas em água.
Caso seja constatado durante o tratamento de água que o uso de oxidante está causando aumento da concentração das cianotoxinas, algumas medidas devem ser tomadas. Se a oxidação for necessária para o tratamento, talvez seja necessário ajustar a dose do oxidante para concentrações menores, diminuindo a chance que ocorrer a lise. Ou até mesmo concentrações maiores, para que além a lise celular, o oxidante também atue na oxidação das cianotoxinas.

OBJETIVOS

A fim de estudar como a oxidação com hipoclorito de sódio pode afetar as células de cianobactérias, foram executados ensaios experimentais em escala de microcosmos, utilizando amostras com cepas conhecidas de cianobactérias. Para investigar o efeito da oxidação em condições extremas, os ensaios foram realizados com amostras concentradas e mistas. As cepas foram oxidadas por 0 - 30 minutos com hipoclorito de sódio 1,5 mg/L e as amostras resultantes foram avaliadas quanto à viabilidade células e concentração de cianotoxinas. As cianotoxinas avaliadas nesse trabalho são as seguintes: Microcistinas, Saxitoxinas e Cilindrospermopsinas.

METODOLOGIA

Ensaios de Viabilidade Celular

As determinações de viabilidade celular foram realizadas com um kit LIVE/DEAD™ BacLight™ Bacterial Viability e microscópio de fluorescência (BX-60 Olympus). As cepas de interesse ***Raphidiopsis (Cylindrospermopsis) raciborskii*** (Cepa: CYRF. Origem: Represa do Funil - RJ / LabAlgas / UERJ. Cultivo: LABEP - UFJF. Toxina: Saxitoxina e Cilindrospermopsina), ***Microcystis aeruginosa*** (Cepa: MIRF. Origem: Represa do Funil - RJ / LabAlgas / UERJ. Cultivo: LABEP - UFJF. Toxina: Microcistina) e ***Raphidiopsis raciborskii*** (Cepa: RSSP01. Origem: Represa do São Pedro - Juiz de Fora - MG. Cultivo: LABEP - UFJF. Toxina: Saxitoxina e Cilindrospermopsina) foram obtidas da coleção de culturas de cianobactérias do Laboratório de Ecologia do Plâncton (LABEP) da Universidade Federal de Juiz de Fora (Figura 1).

Figura 1 - Culturas de cianobactérias (CYRF, MIRF e RSSP01) utilizadas para os ensaios de viabilidade celular e cianotoxinas após pré-oxidação à diferentes tempos de contato





Para o crescimento prévio das culturas, as culturas de estoque de cianobactérias foram mantidas em erlenmeyers de 300 mL e colocadas em sala com temperatura controlada a 24,5 °C, 35 µmol fótons m^{-2} s^{-1}, com fotoperíodo de 12:12 h. Os seguintes ensaios foram realizados. Ensaio (1): realizado com uma cultura mista de 50% CYRF + Monoraphidium sp. e 50% MIRF estabelecidas a partir de culturas de estoque previamente preparadas. As culturas foram misturas logo antes do início do teste, a fim de minimizar o tempo de interação. Ensaio (2): realizado com uma cultura não axênica de RSSP01. Vide Tabela 1.

Os ensaios foram executados com 100 mL das culturas de cianobactérias em um béquer sob agitação à 50 rpm, onde o hipoclorito de sódio foi adicionado mantendo a concentração à 1,5 mg/L. Então, as amostras foram coletadas em diferentes tempos de contato (0 - 30 minutos). A fim de encerrar a oxidação, as alíquotas retiradas foram tratadas com tiossulfato de sódio 3% a fim de neutralizar o cloro. As alíquotas foram mantidas na ausência de luz até a execução dos ensaios de viabilidade celular e de determinação de cianotoxinas. Os resultados estão discutidos no tópico .

Tabela 1 - Resumo dos ensaios com culturas, tempos de oxidação e quais análises foram realizadas

Cepa	Amostra	Tempo de Oxidação	Análises*	Cepa	Amostra	Tempo de Oxidação	Análises*
50% CYRF e 50% MIRF	**1.1**	0:00	VC + CT	**RSSP01**	**2.1**	0:00	VC + CT
	1.2	4:00	VC + CT		**2.2**	4:00	VC + CT
	1.3	8:00	VC + CT		**2.3**	8:00	VC + CT
	1.4	12:00	CT		**2.4**	12:00	CT
	1.5	15:00	CT		**2.5**	15:00	CT
	1.6	30:00	CT		**2.6**	30:00	CT

* VC: Viabilidade Celular; CT: Cianotoxinas.

Ensaios de Cianotoxinas

Para determinação de Cianotoxinas (Microcistinas, Saxitoxinas e Cilindrospermopsinas) utilizou-se uma Leitura de Microplacas - Marca: Diatek, Modelo: DR-200 BC. Para a quantificação foi utilizado o protocolo do Kit Beacon de análise. Para cada cianotoxinas foi utilizado um kit específico, contudo o procedimento de análise era o mesmo. Adicionou-se 50 µL da solução enzima conjugado (*Enzyme Conjugate*), 50 µL das amostras de água e 50 µL da solução anticorpo (*Antibody Solution*) em cada poço individual. Então, a microplaca foi agitada e incubada em temperatura ambiente (30 minutos para microcistina e saxitoxina, e 45 minutos para cilindrospermopsinas).

Após a incubação, o conteúdo dos poços foi desprezado e na sequência, efetuado o procedimento de lavagem por quatro vezes. E os poços foram invertidos e batidos contra uma folha de papel absorvente para eliminar a solução de lavagem após cada etapa de lavagem. Em seguida, adicionou-se 100 µL do substrato (*Substrate*) em cada poço. Então, a microplaca foi agitada e incubada em temperatura ambiente (30 minutos para microcistina e saxitoxina, e 45 minutos para cilindrospermopsinas).

Após o período de incubação, adicionou-se 100 µL da solução de parada (*Stop Solution*) em cada poço na mesma sequência utilizada para a adição da solução de cor. Então, absorbância foi lida a 450 nm utilizando uma Leitora de Microplacas ELISA Kasuaki - DR-200BS-NM-BI. A determinação de cianotoxinas foi realizada por meio de uma curva logística (4PL) de 4 parâmetros traçada com o auxílio do *software Excel*.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ensaios da Viabilidade Celular das Cianobactérias

A avaliação da viabilidade bacteriana é baseada na integridade da membrana plasmática. Nesse trabalho, a viabilidade celular foi determinada por meio da microscopia de fluorescência.

Foram utilizados no ensaio de fluorescência o kit de viabilidade celular LIVE/DEAD™ BacLight™ Bacterial Viability (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific). Esse kit é composto por dois corantes fluorescentes, o *SYTO™ 9* e o *Iodeto de Propídeo (PI)*. Esses marcadores permitem avaliar a viabilidade celular em função da integridade da membrana celular (ZARANTONELLO, SILVA, *et al.*, 2018; NOYMA, SILVA, *et al.*, 2015). Esse kit traz um procedimento prático e rápido da distinção entre células viáveis e não viáveis.

O SYTO-9 é um corante verde-fluorescente que penetra em todas as membranas. Já o iodeto de propídio é vermelho-fluorescente e penetra apenas nas células com membranas danificadas, substituindo o SYTO-9 por ter maior afinidade pelo DNA, permitindo identificar microrganismos mortos. Assim, a combinação dos dois corantes permite a distinção entre bactérias vivas/mortas. A proporção de células viáveis foi calculada a partir da relação entre células viáveis (fluorescência verde) e não viáveis (fluorescência vermelha) em comparação com o grupo controle. Para organismos coloniais/unicelulares foi realizada a contagem celular bruta. Para filamentos, foi quantificado o comprimento viável/não viável, que posteriormente foi convertido em número de células (ZARANTONELLO, SILVA, *et al.*, 2018; NOYMA, SILVA, *et al.*, 2015).

Nesse trabalho, a técnica de viabilidade celular foi utilizada para avaliar como o processo de pré-oxidação influenciou na viabilidade das cianobactérias e como isso se relaciona às concentrações de cianotoxinas. O ensaio com kit foi usado no trabalho para avaliar a viabilidade celular de culturas de cianobactérias após o tratamento de pré-oxidação com hipoclorito de sódio a 1,5 mg/L.

A coloração das amostras foi realizada por meio da mistura em partes iguais (1:1) dos corantes *SYTO™ 9* e *Iodeto de Propídeo (PI)* em tubo Eppendorf, mantido protegido da luz para evitar fotodegradação. Em seguida, foram adicionados 3 µL do preparado BacLight™ a 1 mL da amostra, com posterior incubação por 15 minutos no escuro. Para a preparação das lâminas (n = 3), 300 µL da amostra corada foram transferidos para funis (*Funnels for Shandon™ Cytospin 4™ Centrifuges*) e submetidos à centrifugação em citocentrífuga (*Shandon Cytospin 4, Thermo Electron Corporation, Madison, WI*), a 1500 rpm por 5 minutos, com aceleração média.

As micrografias foram obtidas em um microscópio de fluorescência (BX-60, Olympus, Melville, NY, EUA) usando filtro U-MWB (comprimentos de onda de excitação de 450 - 480 nm) que permite a visualização simultânea de ambos os marcadores de fluorescência de células vivas e mortas. As cianobactérias foram contadas diretamente em 10 campos aleatórios da lâmina com ampliação de 400 X. Para determinação da proporção de células viáveis/não viáveis, cada um dos dez campos aleatórios foi particionado em 16 quadrantes. Dentre esses, 3 quadrantes foram aleatoriamente sorteados para serem contados. A partir dessa contagem, a proporção de células para cada campo aleatório foi estimada com a seguinte Equação (1):

$$S_v = \frac{(\Sigma C) \cdot Q}{n} \qquad \text{Equação (1)}$$

Onde:
S_v = superfície viável/não viável
ΣC: soma das medições dos quadrantes aleatórios
Q: número total de quadrantes
n = número de quadrantes contados

Do ponto de visto do tratamento de água, almeja-se que a pré-oxidação com hipoclorito de sódio a 1,5 mg/L de culturas de cianobactérias resulte em células intactas, evitando a ruptura celular. Dessa forma, a pré-oxidação além de aumentar a eficiência do tratamento de água, não estaria afetando a integridade das células de cianobactérias.

Os valores médios foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo (ANOVA de Medidas Repetidas). A ANOVA de Medidas Repetidas é uma ferramenta estatística usada para comparar médias entre dois ou mais grupos quando as mesmas unidades experimentais são avaliadas em diferentes momentos no tempo, levando em conta a correlação entre as medições. Com isso, torna-se possível identificar efeitos temporais com maior precisão e minimizar a influência das diferenças individuais sobre os resultados. Assim, é possível determinar se as mudanças na viabilidade celular observadas são devidas ao tratamento experimental ou se são apenas variações aleatórias ao longo do tempo. Nesse trabalho a viabilidade celular foi quantificada e os dados submetidos à análise de variância para identificar diferenças significativas entre os diferentes tempos de pré-oxidação celular (NOYMA, SILVA, *et al.*, 2015).

A Figura 2 traz as micrografias fluorescentes dos ensaios, com (1) 50% CYRF e 50% MIRF e (2) RSSP01. São exibidas micrografias de um campo obtido de uma lâmina em cada um dos tempos de pré-oxidação testados: 0,0 (controle), 4,0 e 8,0 min. Conforme mostrado nas imagens, são observadas células de cianobactérias majoritariamente vivas nos três grupos testados, evidenciadas pela fluorescência verde. Aparentemente, as células expostas a hipoclorito de sódio a 1,5 mg/L por 4,0 e 8,0 minutos não apresentaram uma redução na viabilidade, em comparação com o controle. Esse resultado era o almejado pela pesquisa, visto que o objetivo é que as cianobactérias mantenham células intactas, evitando a ruptura celular.

Os gráficos mostrando a proporção de células viáveis dos ensaios com (1) 50% CYRF e 50% MIRF e (2) RSSP01, encontra-se nas Figura 3.

Figura 2 - Micrografias fluorescentes do ensaio com (1) 50% CYRF e 50% MIRF e (2) RSSP01 coradas com o kit *LIVE/DEAD™ BacLight™ Bacterial Viability* em diferentes tempos de contato com pré-oxidante

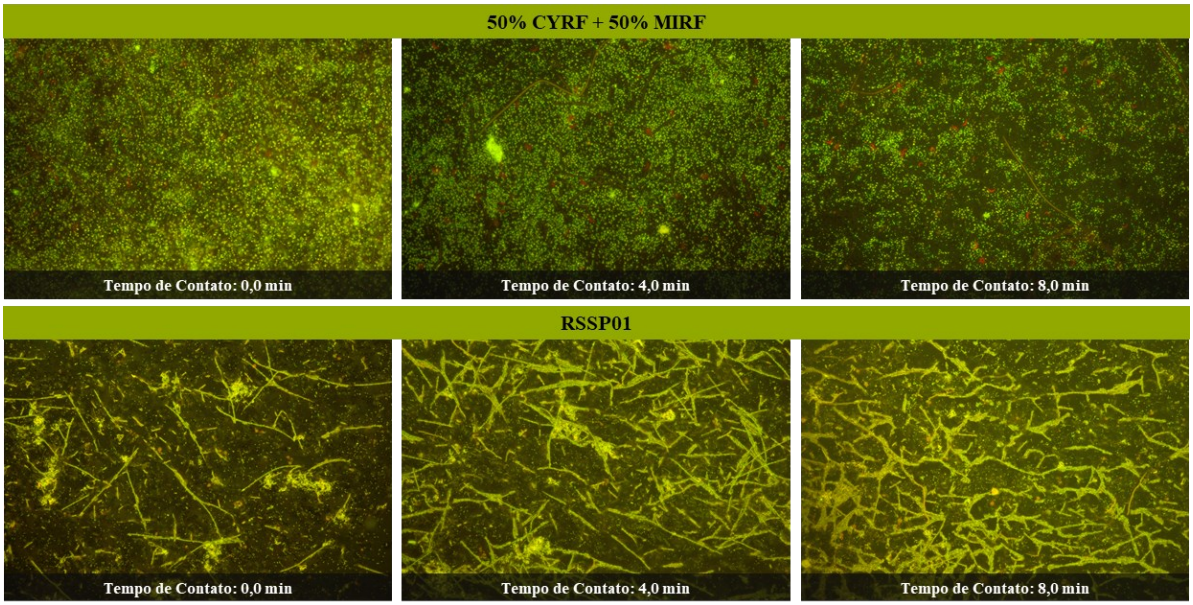
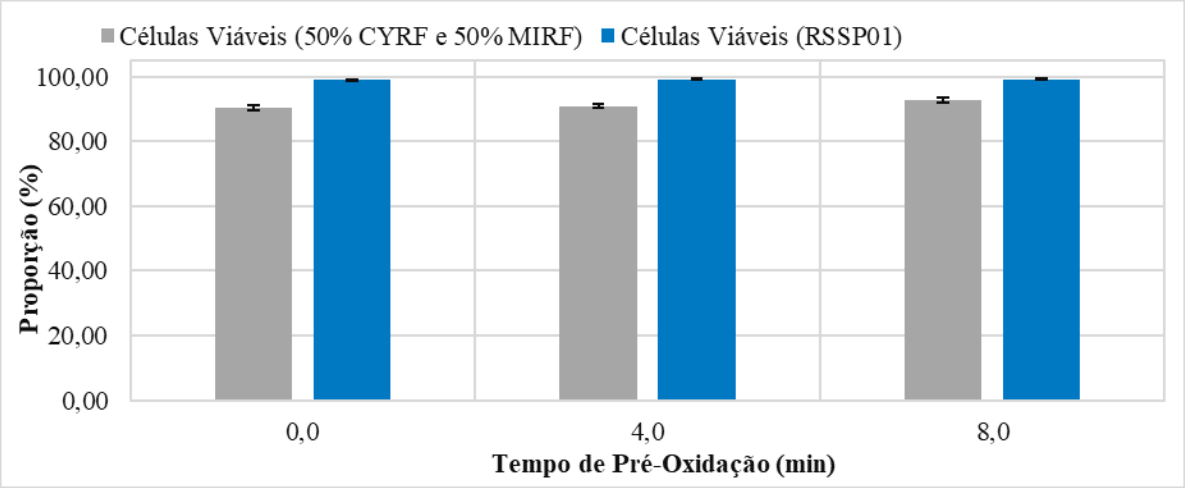


Figura 3 - Porcentagens de células viáveis da amostra com (1) 50% CYRF e 50% MIRF e (2) RSSP01 em diferentes tempos de pré-oxidação (0,0 / 4,0 / 8,0 min) com hipoclorito de sódio 1,5 mg/L



Na amostra 50% CYRF e 50% MIRF, a ANOVA de medidas repetidas indicou que não houve efeito significativo do tempo sobre a proporção de superfície viável (F(2, 2) = 0.04, p = 0.961). No entanto, foi observado um efeito significativo da viabilidade (F(1, 1) = 33441.07, p = 0.003), sugerindo diferenças relevantes entre os grupos viáveis e inviáveis. A interação entre tempo e viabilidade não foi significativa (F(2, 2.07) = 1.36, p = 0.425), indicando que não houve perda de viabilidade significativa ao longo do tempo.

Já na amostra RSSP01, a ANOVA de medidas repetidas não revelou efeito significativo do tempo sobre a proporção de superfície viável (F(2, 4) = 0.00, ges < 0.001, p > 0.999). O efeito de viabilidade foi altamente significativo (F(1, 2) = 1231.67, ges = 0.994, p < 0.001), indicando clara diferença entre as categorias viáveis e inviáveis. A interação tempo × viabilidade, no entanto, também não se mostrou significativa (F(1, 2) = 0.32, ges = 0.103, p = 0.629).

Em resumo, em ambos os ensaios não houve diferença estatística significativa entre as células viáveis/não viáveis e nem entre os tempos de contato (p > 0,05). Logo, concluiu-se que a pré-oxidação não apresentou diferença na viabilidade celular ao longo do tempo testado. Após a exposição ao oxidante, não é observada a perda da integridade celular em nenhum tempo de contato. Esses resultados indicam que não há dano imediato à membrana celular das cianobactérias com hipoclorito de sódio 1,5 mg/L para as culturas utilizadas: CYRF/MIRF e RSSP01.

É importante ressaltar que a pré-oxidação pode afetar a integridade das células das cianobactérias, porém, também pode causar a oxidação dos metabólitos intracelulares libertados, nesse caso, as cianotoxinas. Logo, deve-se avaliar como a pré-oxidação afeta a concentração das cianotoxinas em diferentes tempos de contato.

Determinação de Cianotoxinas em Relação ao Tempo de Pré-Oxidação

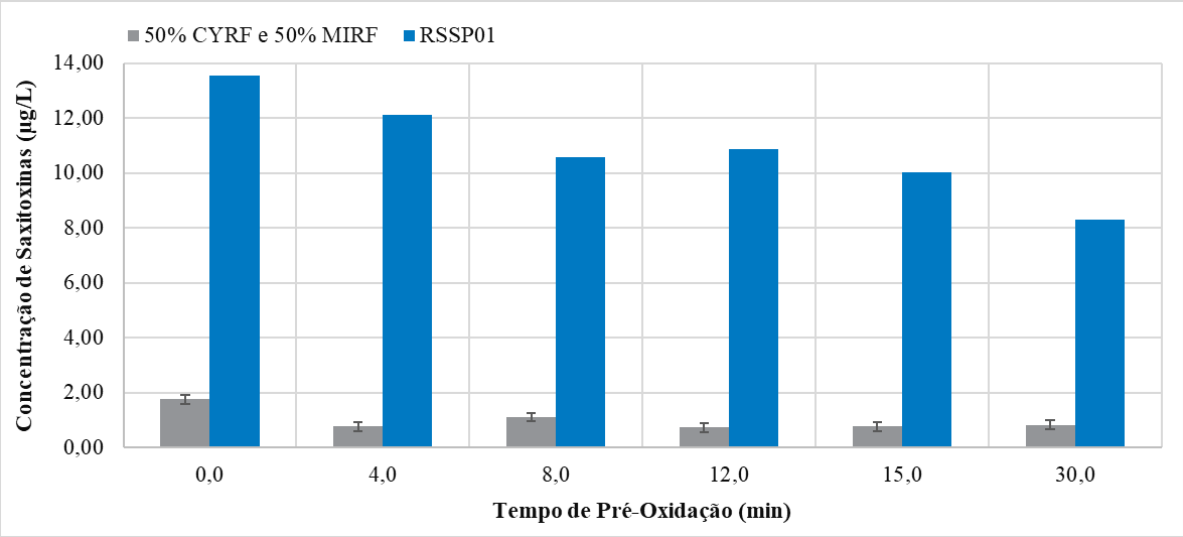
Os resultados da viabilidade bacteriana nesse trabalho serão relacionados aos valores de cianotoxinas. Isto é, primeiro avaliou-se a integridade das cianobactérias por microscopia de fluorescência. Após, investigou-se como e se viabilidade celular influenciou na liberação de cianotoxinas. A determinação de cianotoxinas foi feita por um imunoensaio para a detecção quantitativa e sensível. O teste é uma competição direta no método ELISA para detecção de cianotoxinas.

Inicialmente, determinou-se a concentração de microcistinas, saxitoxinas e cilindrospermopsinas das culturas de cianobactérias testadas. Visto que o objetivo é avaliar o potencial de oxidação em condições mais extremas, espera-se que as culturas de cianobactérias selecionadas já possuam concentrações iniciais elevadas de cianotoxinas. Para testar o potencial de oxidação com hipoclorito de sódio 1,5 mg/L, as culturas foram mantidas sob pré-oxidação em diferentes tempos de contato de 0,0 - 30,0 min.

Os resultados de microcistinas e cilindrospermopsinas para os dois ensaios, (1) 50% CYRF e 50% MIRF e (2) RSSP01, foram iguais para ambas as culturas: <0,50 e 0,13 µg/L, respectivamente. Dessa forma, visto que as amostras iniciais não apresentaram concentrações elevadas de cianotoxinas, os ensaios de microcistinas e cilindrospermopsinas não serão utilizados para realizar o estudo comparativo do potencial de oxidação das cianotoxinas durante a pré-oxidação testada.

Já os resultados de saxitoxinas para os dois ensaios, (1) 50% CYRF e 50% MIRF e (2) RSSP01, foram iguais a 1,74 e 13,75 µg/L, respectivamente. Logo, devido aos resultados elevados, foram realizadas as demais análises de saxitoxinas nos dois ensaios para os diferentes tempos de pré-oxidação. Os resultados estão na Figura 4.

Figura 4 - Gráfico mostrando o comportamento de Saxitoxinas (µg/L) da amostra com (1) 50% CYRF e 50% MIRF e (2) RSSP01 em diferentes tempos de pré-oxidação com hipoclorito de sódio 1,5 mg/L



Para a cultura de 50% CYRF e 50% MIRF, o gráfico apontou que os tempos de contato testados (0,0 - 30,0 min) com hipoclorito de sódio 1,5 mg/L oxidaram entre 36,8 - 58,5% de saxitoxinas. Aparentemente o aumento do tempo de oxidação não apresentou maior oxidação. Contudo, todos os tempos testados resultaram na redução da concentração de saxitoxinas.

Já para a cultura de RSSP01, o gráfico apontou que os tempos de contato testados (0,0 - 30,0 min) com hipoclorito de sódio 1,5 mg/L oxidaram entre 10,5 - 38,7% de saxitoxinas. O aumento do tempo de oxidação, aumentou a porcentagem de oxidação. Ambos resultados confirmam o que diversos estudos anteriores têm apresentado sobre o potencial do cloro como um oxidante eficaz na destruição de cianotoxinas.

A pré-oxidação da água bruta pode aumentar o potencial de estresse das cianobactérias, causando a lise das células e posterior liberação das cianotoxinas em água. Contudo, o uso de oxidantes também pode ser usado para degradação das cianotoxinas antes mesmo de entrarem na estação de tratamento de água. (NETO e NEYCOMBE, 2017). Dessa forma, embora o cloro seja um forte oxidante, capaz de promover a liberação rápida de cianotoxinas ao romper as paredes celulares das cianobactérias, ele também possui a capacidade de oxidá-las de maneira eficiente (NETO e NEYCOMBE, 2017; LUCAS, PEGORER e LUCA, 2010). Esse comportamento pode ser observado nos resultados.

CONCLUSÕES

A pré-oxidação da água bruta sempre traz preocupação com relação a produção de cianotoxinas em função da lise celular das cianobactérias. Na ruptura da célula, as cianotoxinas podem ser liberadas para a água. Contudo, a oxidação química também funciona como uma técnica efetiva na remoção de cianotoxinas. Porém, o objetivo durante o tratamento de água sempre visa a remoção das células viáveis de cianobactérias, sem provocar a degradação da membrana celular, para assim evitar a liberação de toxinas.

Nos experimentos realizados nesse trabalho, não houve evidências que sugerissem que a pré-oxidação provocou a lise das células de cianobactérias. Não houve diferença estatística significativa entre as células viáveis/não viáveis e nem entre os tempos de contato ($p > 0,05$). A exposição ao oxidante não resultou em perda de integridade celular em nenhum dos tempos analisados. Esses resultados sugerem que, nas condições testadas, o hipoclorito de sódio a 1,5 mg/L não provocou danos imediatos à membrana celular das cianobactérias avaliadas.

Nos ensaios de cianotoxinas, a cultura de 50% CYRF e 50% MIRF apresentou oxidação entre 36,8 - 58,5% de saxitoxinas com hipoclorito de sódio 1,5 mg/L nos tempos de contato testados (0,0 - 30,0 min). Enquanto a cultura de RSSP01, apresentou oxidação entre 10,5 - 38,7% de saxitoxinas com hipoclorito de sódio 1,5 mg/L nos tempos de contato testados (0,0 - 30,0 min). Ambos resultados confirmam o potencial do cloro como um oxidante eficaz na destruição de cianotoxinas.

REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS

1. CEMIG. **As Cianobactérias e a Qualidade da Água**. [S.l.]: [s.n.], 2011.

2. MINISTÉRIO DA SAÚDE, M. **Orientações técnicas para o monitoramento de cianobactérias/cianotoxinas nos mananciais de abastecimento de água para consumo humano**. 1. ed. Brasília: Editora MS, 2016.

3. MÜLLER, L. et al. Cianobactérias, cianotoxinas e o tratamento químico da água: uma análise bibliométrica da produção científica mundial. **Revista Brasileira de Planejamento e Desenvolvimento**, v. 7, 2018.

4. GRADÍSSIMO, D. G.; MOURÃO, M. M.; SANTOS, A. V. Importância do Monitoramento de Cianobactérias e Suas Toxinas em Águas Para Consumo Humano. **Rev. Bras. Crimin.**, v. 9, n. 2, p. 15-21, 2020.

5. FUNASA. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção emgua para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2003. 56 p: [s.n.], 2003.

6. REIS, K. C. D.; NETO, J. C. Uso do peróxido de hidrogênio no controle de cianobactérias – uma perspectiva bioquímica. **Eng Sanit Ambient**, v. 27, n. 1, p. 1-9, jan/fev 2022.

7. ZARANTONELLO, V. et al. The Cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii (CYRF-01) Responds to Environmental Stresses with Increased Vesiculation Detected at Single-Cell Resolution. **Front. Microbiol.**, v. 9, p. 2018, February 2018.

8. NOYMA, N. P. et al. Potential effects of UV radiation on photosynthetic structures of the bloom-forming cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii CYRF-01. **Front. Microbiol.**, v. 6, October 2015.

9. NETO, J. C.; NEYCOMBE, G. Oxidação de cianobactérias e seus metabólitos em sistemas de tratamento de água: o estado da arte. **Eng Sanit Ambient**, v. 22, n. 5, p. 829-840, set/out 2017.

10. LUCAS, S. J.; PEGORER, M. G.; LUCA, M. A. Oxidação de microcistinas-LR em águas pelo íon ferrato(VI). **Eng. Sanit. Ambient.**, v. 15, n. 1, Mar 2010.